

## Effect of potassium channel blocker Tetraethylammonium pretreatment on prevention of the 6-OHDA-induced chronic Parkinson's disease in rats

H. Haghdoust-Yazdi\* S. Sehatbakhsh\*\* M. Sophiabadi\*\*\* T. Dargahi\*\*\*\* MH.Yaghubidust\*\*\*\*\* H. Piri\*\*\*\*\*

\*Assistant Professor of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*M.Sc. Student of Anatomy, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*Associate Professor of Physiology, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*\*M.Sc. Student of Hematology, Iranian Blood Transfusion Organization, Tehran, Iran

\*\*\*\*\*Medical Student, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

\*\*\*\*\*Assistant Professor of Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

### \*Abstract

**Background:** Nuclease and caspase activities that promote death signals and cause apoptosis are dependent to potassium ion.

**Objective:** The aim of this study was to investigate the effect of potassium channel blocker tetraethylammonium (TEA) on prevention of Parkinson's disease in rats.

**Methods:** This experimental study was conducted on 33 male rats in Qazvin University of Medical Sciences, 2014. 6-hydroxydopamine (6-OHDA) was injected into the striatum of the brain. The rats received different doses of TEA twice daily the day before the 6-OHDA injection till 15 days after the injection. The severity of Parkinsonism was assessed by the apomorphine-induced rotational behavior, the elevated body swing test (EBST), and the rotarod test. Data were analyzed using Kruskal Wallis and Mann Whitney U tests.

**Findings:** Pretreatment with 5 mg/kg TEA significantly reduced the severity of rotations compared to the saline group. TEA did not reduce the swings in the EBST. In the rotarod test, TEA caused significant improvement in the motor performance of the rats.

**Conclusion:** With regards to the results, it seems that pretreatment with TEA can partly reduce the severity of behavioral symptoms in the 6-OHDA-induced chronic Parkinson's disease. The higher the TEA dose, the more significant the reduction in the severity of symptoms.

**Keywords:** Potassium Channels, Tetraethylammonium, Oxidopamine, Substantia Nigra

**Citation:** Haghdoust-Yazdi H, Sehatbakhsh S, Sophiabadi M, Dargahi T, Yaghubidust MH, Piri H. Effect of potassium channel blocker Tetraethylammonium pretreatment on prevention of the 6-OHDA-induced chronic Parkinson's disease in rats. J Qazvin Univ Med Sci. 2016; 20 (2): 41-48.

**Corresponding Address:** Hossein Piri, Cellular and Molecular Research Center, Qazvin University of Medical Sciences, Qazvin, Iran

**Email:** hosseinpriy@gmail.com

**Tel:** +98-28-33336001-6

**Received:** 2 Sep 2015

**Accepted:** 3 Feb 2016

## اثر پیش‌درمانی با مهارکننده کانال‌های پتاسیمی تترائیل آمونیوم بر پیشگیری از ایجاد بیماری پارکینسون در مدل مزمن ۶- هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی

دکتر هاشم حق‌دوست یزدی\* سهیلا صحت بخش\*\* دکتر محمد صوفی‌آبادی\*\*\* طاهره درگاهی\*\*\*\* محمدحسین یعقوبی دوست\*\*\*\*\* دکتر حسین پیری\*\*\*\*\*

\* استادیار فیزیولوژی مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
 \*\* دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
 \*\*\* دانشیار فیزیولوژی مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
 \*\*\*\* دانشجوی کارشناسی ارشد خون‌شناسی سازمان انتقال خون ایران، تهران، ایران  
 \*\*\*\*\* دانشجوی پزشکی عمومی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران  
 \*\*\*\*\* استادیار بیوشیمی بالینی مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین، قزوین، ایران

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، تلفن ۰۲۸-۳۳۳۳۶۰۰۱-۶

Email: hosseinpary@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۱

### \*چکیده

**زمینه:** فعالیت آنزیم‌های نوکلئاز و کاسپاز که علامت‌های مرگ را هدایت و تقویت می‌کنند و سبب مرگ برنامه‌ریزی شده می‌شوند، به یون پتاسیم وابسته است.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین اثر مهارکننده کانال‌های پتاسیمی تترائیل آمونیوم در پیشگیری از ایجاد بیماری پارکینسون در موش‌های صحرایی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۳ در دانشگاه علوم پزشکی قزوین بر روی ۳۳ سر موش‌های صحرایی نر انجام شد. موش‌ها قبل از دریافت سم ۶- هیدروکسی دوپامین تا ۱۵ روز پس از آن دوزهای مختلف تترائیل آمونیوم را دو بار در روز دریافت کردند. ۶- هیدروکسی دوپامین به ناحیه استریاتوم مغز تزریق و شدت پارکینسون توسط آزمون‌های رفتاری چرخش القا شده با آپومرفین، آزمون پیچش بدن بالا رفته (EBST) و روتارد ارزیابی شد. داده‌ها با آزمون‌های آماری غیرپارامتریک کروسکال والیس و من ویتنی یو تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** دوز ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تترائیل آمونیوم سبب کاهش شدید و معنی‌دار شدت چرخش‌ها نسبت به گروه سالین شد. در آزمون پیچش بدن بالا رفته، تترائیل آمونیوم اثر چشمگیری در کاهش تعداد نوسان‌ها نداشت. در آزمون روتارد، تترائیل آمونیوم به بهبود قابل ملاحظه اجرای حرکتی موش‌ها منجر شد.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به یافته‌ها، به نظر می‌رسد پیش‌درمان با تترائیل آمونیوم می‌تواند تا اندازه‌ای شدت علائم رفتاری بیماری پارکینسون را در مدل مزمن پارکینسونیسم القا شده با سم ۶- هیدروکسی دوپامین کاهش دهد، ولی دوز بیش‌تر، اثرات قوی‌تری در کاهش شدت علائم دارد.

**کلیدواژه‌ها:** کانال‌های پتاسیمی، تترائیل آمونیوم، اُکسی دوپامین، هسته جسم سیاه

### \*مقدمه

این رو در حال حاضر پژوهش‌ها به سمت شناخت روش‌های نوین برای پیشگیری از مرگ نورون‌های دوپامینرژیک و جلوگیری از بروز این بیماری پیش می‌رود.<sup>(۲۹)</sup>

کانال‌های پتاسیمی در تنظیم خواص الکتروفیزیولوژیک نورون‌ها نقش مهمی ایفا می‌کنند. آن‌ها الگو و بسامد شلیک در نورون‌ها را تنظیم می‌کنند و از این طریق در کُند کردن علامت‌ها در سیستم‌های

بیماری پارکینسون دومین بیماری شایع تحلیل‌برنده عصبی (نورودژنراتیو) بعد از بیماری آلزایمر است که بر اثر تخریب نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم هسته جسم سیاه (substantial nigra) به وجود می‌آید. اگرچه درمان با داروی ال-دوپا بسیاری از علائم بیماری را برطرف می‌کند، ولی پس از چند سال برخی علائم به طور مجدد عود می‌کنند که سبب پایین آمدن کیفیت زندگی می‌شود. از

### \* مواد و روش‌ها:

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۳ در گروه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی قزوین انجام شد. تعداد ۳۳ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم در قفس‌های بزرگ با ابعاد  $20 \times 59 \times 38$  سانتی‌متر در اتاقی با درجه حرارت کنترل شده و شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند و به آب و غذا به صورت نامحدود دسترسی داشتند.

سپس موش‌ها به ۴ گروه تقسیم شدند: ۱- گروه سالین (۸ موش) که به مقدار ۱/ میلی‌لیتر سالین دریافت کردند. ۲- گروه تترائیل آمونیوم کم (۸ موش) که قبل از تزریق سم ۶- هیدروکسی دوپامین تا ۱۵ روز پس از آن روزی دو بار ۲ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت درون صفاقی تترائیل آمونیوم دریافت کردند. ۳- گروه تترائیل آمونیوم زیاد (۷ موش) که قبل از تزریق سم ۶- هیدروکسی دوپامین تا ۱۵ روز پس از آن روزی دو بار ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تترائیل آمونیوم به صورت درون صفاقی دریافت کردند. تمامی موش‌های این گروه‌ها جراحی استرئوتاکسی شدند و سم ۶- هیدروکسی دوپامین به درون مغز آن‌ها تزریق شد. ۴- گروه موش‌های سالم (۱۰ موش) که تحت عمل جراحی و دریافت سم ۶- هیدروکسی دوپامین قرار نگرفتند و هیچ‌گونه دارویی دریافت نکردند. بر روی تمامی موش‌ها (به جز موش‌های سالم) در هفته قبل از جراحی، آزمون چرخش القا شده با آپومرفین انجام شد و موش‌هایی جهت مطالعه انتخاب شدند که در یک ساعت کم‌تر از ۱۰ چرخش خالص به هر طرف را نشان دادند. در گروه‌های مزمن آزمون چرخش القا شده با آپومرفین و پیچش بدن بالا رفته در هفته‌های چهارم، ششم و هشتم پس از جراحی و آزمون روتارد در هفته هشتم پس از جراحی انجام شد.

برای جراحی استرئوتاکسی، موش‌ها ابتدا با استفاده از کتامین یا زایلازین ( $6/60$  میلی‌گرم بر کیلوگرم) بی‌هوش و در دستگاه استرئوتاکس قرار گرفتند. مقدار ۶ میکرولیتر

عصبی، حسی و حرکتی نقش دارند. مهار این کانال‌ها با کاهش شیب رپولاریزاسیون به طولانی شدن پتانسیل عمل و تعدیل دامنه هیپرپلاریزاسیون منجر می‌شود.<sup>(۴۳)</sup> از طرف دیگر، فعالیت آنزیم‌ها، نوکلئازها و کاسپازها که علامت‌های مرگ را هدایت و تقویت می‌کنند و از این طریق سبب مرگ برنامه‌ریزی شده می‌شوند، به یون پتاسیم وابسته است. در سلول‌های ایمنی و عصبی در حال مرگ برنامه‌ریزی شده، میزان یون پتاسیم داخل سلولی به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد که باعث فعال شدن کاسپاز ۳ و ایجاد مرگ سلولی می‌شود.<sup>(۴۵)</sup> همچنین نشان داده شده است که پروتئین AB (یک پروتئین غشایی که به میزان زیادی در سیستم عصبی بیان شده و در یادگیری و بقای سلولی نقش دارد) می‌تواند از طریق فعال کردن جریان پتاسیمی وابسته به کلسیم با هدایت بالا سبب سمیت سلول عصبی شود. از این رو تصور می‌شود اختلال در این پروتئین ممکن است در فرایند تحلیل عصبی بیماری آلزایمر نقش داشته باشد.<sup>(۷)</sup>

تترائیل آمونیوم (TEA) یک ترکیب آلی سنتز شده است که طیف بزرگی از کانال‌های پتاسیمی را مهار می‌کند.<sup>(۴۳)</sup> تترائیل آمونیوم تحریک‌پذیری نورون‌ها را از طریق مهار این کانال‌ها، افزایش می‌دهد و سبب افزایش شلیک پتانسیل عمل در آن‌ها می‌شود. این دارو نورون‌های خاموش پورکنز مخچه را فعال می‌کند و سبب بروز شلیک انفجاری می‌شود.<sup>(۸-۱۲)</sup> نشان داده شده است که تترائیل آمونیوم و آنالوگ‌های آن در غلظت میکرومولار تمام ویژگی‌های مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده را در سلول‌های تیموسیت کاهش می‌دهند. در نتیجه اثر تترائیل آمونیوم بر روی سطح سیتوپلاسمی کانال‌های وابسته به ولتاژ، اثر القایی استاروسپورین (که باعث فعال شدن کاسپاز ۳ می‌شود) در مرگ سلولی نورونی کاهش می‌یابد.<sup>(۱۳)</sup> بنابراین مطالعه حاضر به منظور تعیین اثر مهارکننده کانال‌های پتاسیمی تترائیل آمونیوم در پیشگیری از ایجاد بیماری پارکینسون در موش‌های صحرایی انجام شد.

حیوان بر روی میله باقی می ماند به عنوان عملکرد در دستگاه روتارود محاسبه می شود.<sup>(۱۷)</sup> در این تحقیق مدت زمان آزمایش ۲۰۰ ثانیه بود که در آن سرعت چرخش میله چرخان از ۵ دور در دقیقه شروع می شد و در مدت ۱۲۰ ثانیه به حداکثر سرعت ۴۰ دور در دقیقه می رسید و در زمان باقی مانده، در حداکثر سرعت می ماند. آزمون در ۳ روز متوالی هر روز ۲ جلسه انجام شد. داده های آزمون روتارد براساس معیار ناحیه زیر منحنی (AUC) و براساس فرمول زیر محاسبه شد:

$$AUC = \frac{0.44}{2} \times \text{زمان روی میله} \times \text{زمان روی میله} \\ 0.44 = \text{میزان شتاب سرعت چرخش میله گردان دستگاه در ثانیه}$$

از آنجا که مهار کانال های پتاسیمی سبب افزایش تحریک پذیری و فعالیت الکتریکی نورون می شود که می تواند به بروز تشنج منجر شود، قبل از شروع مطالعه، آزمایش هایی برای یافتن دوز تحت تشنجی داروی تترااتیل آمونیوم انجام شد. تجویز درون صفاقی داروی تترااتیل آمونیوم در دوزهای ۲ و ۵ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن هیچ گونه عوارض قابل مشاهده ای بر روی موش ها نداشت و در این مطالعه استفاده شد.

داده ها برحسب میانگین و خطای معیار بیان شدند. برای تحلیل آماری نتایج آزمون های رفتاری از آزمون های غیرپارامتریک کروسکال والیس و من ویتنی یو استفاده و سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### \* یافته ها:

موش های تمامی گروه ها درجه های مختلفی از چرخش القا شده با آپومرفین را نشان دادند و تجویز داروی تترااتیل آمونیوم نتوانست از ایجاد بیماری پارکینسون توسط سم ۶- هیدروکسی دوپامین جلوگیری کند. لکن تفاوت هایی بین گروه ها در شدت چرخش ها مشاهده شد. در اولین آزمون، اگرچه تترااتیل آمونیوم در هر دو دوز سبب کاهش تعداد چرخش ها شد، ولی این اثر در دوز زیاد معنی دار بود ( $P < 0.05$ ). در دومین آزمون، دوز زیاد تترااتیل آمونیوم سبب کاهش شدید و معنی دار شدت

سم ۶- هیدروکسی دوپامین (۴ میکروگرم در هر میکرولیتر حل شده در سالین حاوی ۰/۲ درصد اسید اسکوربیک) به وسیله جراحی استرئوتاکسی و با استفاده از سرنگ هامیلتون از سم به ناحیه استریاتوم نیم کره راست مغز موش ها با مختصات زیر برحسب برگما و براساس اطلس پاکسینوز و واتسون<sup>(۱۴)</sup> تزریق شد:

AP	۱/۵۰	۰/۸	۰/۱	-۰/۵
L	-۲/۵	-۳	-۳/۲	-۳/۶
V	۶	۶	۶	۶

مدت زمان تزریق ۵ دقیقه بود و در پایان، سرنگ برای ۵ دقیقه در محل خود نگه داشته شد و سپس به آهستگی با سرعت یک میلی متر بر دقیقه از مغز بیرون آورده شد.

آزمون چرخش القا شده با آپومرفین براساس روش فوجی و همکاران ۱۹۹۶ انجام شد.<sup>(۱۵)</sup> بدین منظور، ابتدا موش ها در داخل یک استوانه پلکسی گلاس شفاف با قطر ۲۸ و ارتفاع ۳۸ سانتی متر قرار داده شدند و به آن ها ۵ دقیقه جهت سازش با محیط زمان داده شد. سپس ۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم آپومرفین هیدروکلراید به صورت داخل صفاقی به موش ها تزریق شد. یک دقیقه پس از آن، تعداد چرخش ها به طرف محل تزریق سم (عدد منفی) و یا خلاف آن (عدد مثبت) به مدت یک ساعت ثبت گردید. در پایان تعداد چرخش خالص موش ها به یک طرف با جمع جبری اعداد به دست آمده محاسبه شد.

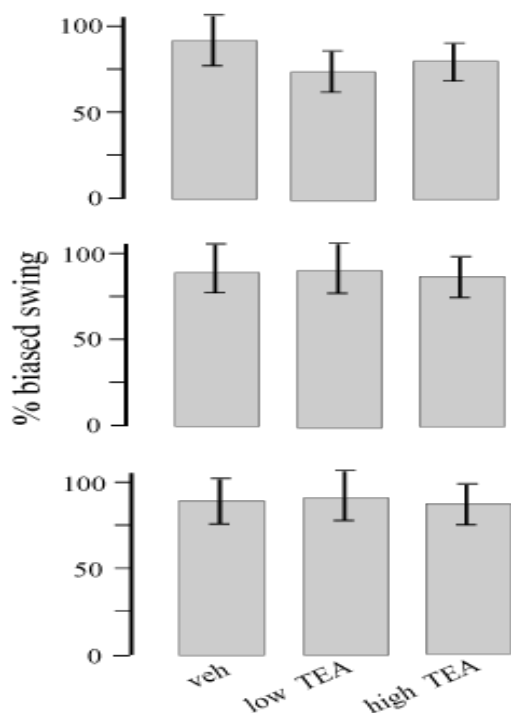
آزمون پیچش بدن بالا رفته طبق روش برلنگن و همکاران در سال ۱۹۹۵ انجام شد.<sup>(۱۶)</sup> به طور خلاصه دم موش از محدوده ۲ سانتی متری محل اتصال با بدن گرفته و به بالا آورده شد. سپس تعداد پیچش ها به سمت راست یا چپ در مدت زمان یک دقیقه، شمارش و انحراف در پیچش بدن به صورت زیر محاسبه شد:

$$R = \frac{R}{R+L} \times \text{درصد پیچش}$$

L: تعداد پیچش به چپ و R: تعداد پیچش به راست.

آزمون روتارود که یادگیری حرکتی موش ها را ارزیابی می کند براساس روش لاندیلد و همکاران انجام شد. دستگاه روتارد شامل یک میله چرخان است که سرعت چرخش آن در طول زمان افزایش می یابد. مدت زمانی که

سالمین شد، ولی در دومین و سومین آزمون اثر آن معنی‌دار نبود (شکل شماره ۲).

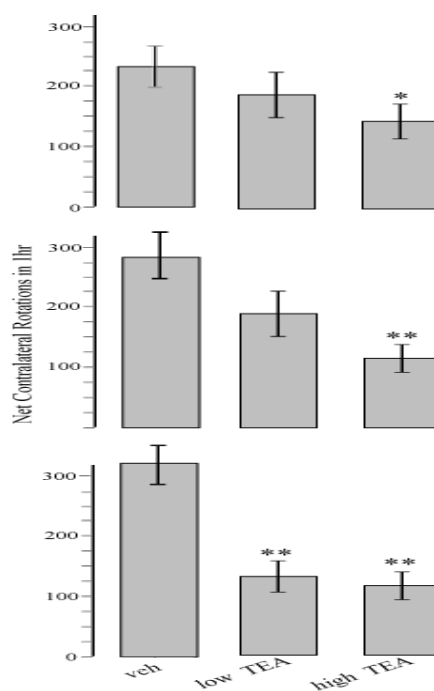


## شکل ۲- نتایج آزمون پیچش بدن بالا رفته

(شکل‌های بالا تا پایین به ترتیب نتایج آزمون را در اولین، دومین و سومین آزمون پس از جراحی نشان می‌دهند)

در آزمون روتارد، موش‌های سالم به سرعت نحوه قدم زدن در دستگاه را آموختند و الگوی یادگیری در جلسه ششم به حداکثر زمان رسید. این یادگیری در موش‌های پارکینسونی (گروه سالمین) بسیار ضعیف بود. پیش‌درمان با تترااتیل آمونیوم به بهبود قابل ملاحظه اجرای حرکتی موش‌ها منجر شد؛ به گونه‌ای که هر دو دوز تترااتیل آمونیوم زمان ماندن موش‌ها بر میله چرخان دستگاه روتارد را در جلسه‌های ۵ و ۶ به طور معنی‌داری نسبت به گروه سالمین افزایش داد ( $P < 0.01$ ). الگوی یادگیری در گروه تترااتیل آمونیوم زیاد به الگوی موش‌های سالم نزدیک بود، ولی در گروه تترااتیل آمونیوم کم به الگوی موش‌های پارکینسونی نزدیک بود (نمودار شماره ۱).

چرخش‌ها (نزدیک به ۵۰ درصد) نسبت به گروه سالمین گردید ( $P < 0.01$ ). ولی این اثر در دوز کم معنی‌دار نبود. در سومین آزمون، هم دوز کم و هم دوز زیاد تترااتیل آمونیوم سبب کاهش شدید و معنی‌دار شدت چرخش‌ها (نزدیک به ۶۰ درصد) نسبت به گروه سالمین شد ( $P < 0.01$ ). همچنین شدت چرخش‌ها در گروه سالمین طی آزمون‌های متوالی به تدریج افزایش یافت، در حالی‌که در گروه‌های تترااتیل آمونیوم چنین اثری مشاهده نشد (شکل شماره ۱).



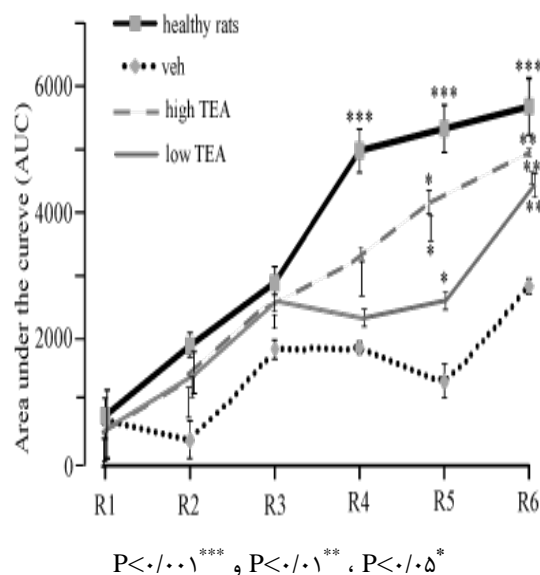
## شکل ۱- نتایج آزمون چرخش القا شده با آپومرفین

(شکل‌های بالا تا پایین به ترتیب نتایج آزمون را در اولین، دومین و سومین آزمون پس از جراحی نشان می‌دهند. Veh = گروه سالمین، Low TEA = دوز کم تترااتیل آمونیوم و High TEA = دوز زیاد تترااتیل آمونیوم)

$P < 0.05^*$  و  $P < 0.01^{**}$

در آزمون پیچش بدن بالا رفته، پیش‌درمان با تترااتیل آمونیوم نتوانست شدت و درجه انحراف پیچش‌ها را تغییر دهد. تنها تترااتیل آمونیوم کم در اولین آزمون باعث کاهش حدود ۲۰ درصد تعداد پیچش‌ها نسبت به گروه

### نمودار ۱- نتایج آزمون روتارد در جلسه‌های مختلف آزمون (R6 تا R1)



### بحث و نتیجه‌گیری:

این مطالعه نشان داد که پیش‌درمان با تتراپیل آمونیوم می‌تواند تا اندازه‌ای شدت علائم رفتاری بیماری پارکینسون را در مدل مزمن پارکینسونیسم القا شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین در موش صحرایی کاهش دهد. این اثرات در هر دو دوز ۲ و ۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلو وزن بدن مشاهده شد ولی دوز بیشتر، اثرات قوی‌تری در کاهش شدت علائم داشت.

پارکینسونیسم القا شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین به دو صورت حاد و مزمن ایجاد می‌شود. نوع حاد بر اثر تجویز سم به ناحیه هسته جسم سیاه (MFB) ایجاد می‌شود. در این حالت سم در مدت ۲ یا ۳ روز سبب مرگ گسترده نورون‌های دوپامینرژیک بخش متراکم هسته جسم سیاه می‌شود. نوع مزمن بر اثر تجویز سم به ناحیه استریاتوم مغز جلویی ایجاد می‌شود. در این حالت سم در مدت ۵ تا ۱۰ روز سبب مرگ نورون‌های دوپامینرژیک هسته جسم سیاه می‌شود. از آنجا که پارکینسون در انسان به آهستگی و تدریجی ایجاد می‌شود، مدل مزمن بیش‌تر شبیه ایجاد بیماری پارکینسون در انسان است.<sup>(۱۸)</sup>

همچنین بیماری پارکینسون یک بیماری پیش‌رونده است به این معنی که پس از تشخیص، علائم آن به تدریج شدیدتر می‌شود. از این‌رو به نظر می‌رسد که تتراپیل آمونیوم می‌تواند از گسترش و تشدید بیماری پارکینسون جلوگیری کند.

گزارش‌ها نشان داده‌اند بین مرگ سلول‌های دوپامینرژیک هسته جسم سیاه و شدت علائم رفتاری در مدل حیوانی ۶-هیدروکسی دوپامین بیماری پارکینسون ارتباط مثبتی وجود دارد. معتبرترین آزمون در ارزیابی شدت این مدل از بیماری پارکینسون آزمون چرخشی است که می‌تواند آسیب‌های نسبی یا تقریباً کامل در هسته جسم سیاه را تشخیص دهد.<sup>(۱۶و۱۷)</sup> همچنین زمان ماندن بر گردونه دستگاه روتارد با آسیب سلولی در این هسته نسبت عکس دارد.<sup>(۱۶)</sup> براساس نتایج این تحقیق نیز پیش‌درمان با تتراپیل آمونیوم توانست تا حدی مرگ نورون‌های دوپامینرژیک در هسته جسم سیاه توسط سم ۶-هیدروکسی دوپامین را کاهش دهد.

گزارش‌هایی مبنی بر اثر بخش بودن تتراپیل آمونیوم در بیماری آلزایمر وجود دارد. اخیراً در یک تحقیق، از آنالوگ‌های تتراپیل آمونیوم به نام‌های تتراپتیل آمونیوم (TPA) و تتراگزیل آمونیوم (THA)، برای بررسی مرگ برنامه‌ریزی شده نورونی و اثر فارماکولوژیک این داروها بر روی جریان‌های غشایی در نورون‌های قشری کشت داده شده استفاده کرده‌اند و به این نتیجه رسیده‌اند که اثرات ناشی از فعال شدن کاسپاز ۳ را تضعیف می‌کنند.<sup>(۱۳)</sup> اما پیشنهادهایی وجود دارد مبنی بر این که اثر حفاظتی کانال‌های پتاسیمی از افزایش میزان یون کلسیم (در اثر فعال شدن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ) ناشی می‌شود.<sup>(۱۹و۲۰)</sup> مطالعه‌های جدید نشان داده‌اند که تغییرات جریان‌های یونی به ویژه پتاسیم، در پیشرفت مرگ سلولی نقش اساسی دارد. در سلول‌های ایمنی و عصبی در حال مرگ، میزان یون پتاسیم داخل سلولی به میزان قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد که باعث فعال شدن کاسپاز ۳ و ایجاد مرگ سلولی می‌شود.<sup>(۴)</sup> همچنین خروج پتاسیم از طریق



از حمایت مالی شورای پژوهش دانشگاه و همکاری گروه‌های بیوشیمی، ژنتیک، فیزیولوژی و علوم تشریح تقدیر می‌شود.

#### \*مراجع:

1. Souphibadi M, Fraidouni N, Faraji A, Dargahi T, Yaghubi-Dust H, Haghdoost-Yazdi H. Effect of tetraethylammonium and B vitamins group in the treatment of Parkinson disease in 6-hydroxydopamin animal model. *Physiol Pharmacol* 2013 Autumn; 17 (3): 266-76.
2. Farooqui T, Akhlaq A. Lipid-mediated oxidative stress and inflammation in the pathogenesis of Parkinson's disease. *Parkinsons Dis* 2011 Feb 15; 2011: 247467.
3. Redman PT, Jefferson BS, Ziegler CB, Mortensen OV, Torres GE, Levitan ES, et al. A vital role for voltage-dependent potassium channels in dopamine transporter-mediated 6-hydroxydopamine neurotoxicity. *Neuroscience* 2006 Nov 17; 143 (1): 1-6.
4. Wang Y, Yang PL, Tang JF, Lin JF, Cai XH, Wang XT, et al. Potassium channels: possible new therapeutic targets in Parkinson's disease. *Med Hypotheses* 2008 Oct; 71 (4): 546-50.
5. Prevarskaya N, Skryma R, Bidaux G, Flourakis M, Shuba Y. Ion channels in death and differentiation of prostate cancer cells. *Cell Death Differ* 2007 Jul; 14 (7): 1295-304.
6. Chik CL, Li B, Karpinski E, Ho AK. Ceramide inhibits the outward potassium current in rat pinealocytes. *J Neurochem* 2001 Oct; 79 (2): 339-48.
7. Santos SF, Pierrot N, Morel N, Gailly P, Sindic C, Octave JN. Expression of human amyloid precursor protein in rat cortical neurons inhibits calcium oscillations. *J Neurosci* 2009 Apr 15; 29 (15): 4708-18.
8. Sacco T, Tempia F. A-type potassium

کانال‌های پتاسیمی برای پیشرفت مرگ سلولی در آنتروسیته‌ها ضروری است و کاربرد تترااتیل آمونیوم با جلوگیری از گسیختگی دی ان ای، فعال شدن کاسپازها، آزاد شدن سیتوکروم سی از میتوکندری‌ها و کاهش پتانسیل غشای میتوکندری‌ها از مرگ سلولی آن‌ها جلوگیری می‌کند.<sup>(۲۰)</sup> شواهد قابل توجهی نشان می‌دهد تترااتیل آمونیوم از طریق مهار کانال‌های پتاسیمی سبب مهار و یا تضعیف فرایند مرگ سلولی می‌شود. همچنین تترااتیل آمونیوم از افزایش بیان پروتئین پیش آپوپتوزی Bcl-2 و همچنین کاهش پروتئین ضد آپوپتوزی Bax جلوگیری می‌کند.<sup>(۲۱)</sup>

مطالعه یو و همکاران نشان داد که تترااتیل آمونیوم از طریق اثر بر نشانگرهای مرگ سلولی، مرگ نورونی القا شده توسط AB1-40 را در نورون‌های قشری کشت داده شده مهار می‌کند.<sup>(۲۲)</sup> همچنین تترااتیل آمونیوم می‌تواند مرگ سلولی القا شده به وسیله روی را در نورون‌های دوپامینرژیک مهار کند. استاروسپورین‌ها خروج پتاسیم از طریق کانال‌های وابسته به ولتاژ را افزایش می‌دهند. تترااتیل آمونیوم همچنین مرگ سلولی القا شده توسط کمپدودسین را در نورون‌های گرانولی کشت داده شده مخچه مهار می‌کند.<sup>(۲۳)</sup> با توجه به مطالب بیان شده، پیش‌درمان با تترااتیل آمونیوم می‌تواند تا اندازه‌ای شدت علائم رفتاری بیماری پارکینسون را در مدل مزمن پارکینسون القا شده با سم ۶-هیدروکسی دوپامین کاهش دهد. این اثرات در هر دو دوز ۲ و ۵ میلی گرم به ازای هر کیلو وزن بدن مشاهده شد ولی دوز بیش‌تر، اثرات قوی‌تری در کاهش شدت علائم داشت. پیشنهاد می‌شود اثرات ضد پارکینسونی مهارکننده‌های کانال‌های پتاسیمی جدیدتر نیز در پیشگیری از پارکینسون بررسی شود. همچنین طی تحقیق‌های آتی میزان دوپامین در استریاتوم بعد از آزمون‌های رفتاری بررسی گردد.

#### \*سپاس‌گزاری:

این مقاله بخشی از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد علوم تشریح دانشگاه علوم پزشکی قزوین است. بدین‌وسیله

currents active at subthreshold potentials in mouse cerebellar Purkinje cells. *J Physiol* 2002 Sep 1; 543 (Pt 2): 505-20.

9. Anwar H, Hong S, De Schutter E. Controlling  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$ -channels with models of  $\text{Ca}^{2+}$  buffering in Purkinje cells. *Cerebellum* 2012 Sep; 11 (3): 681-93.

10. Engbers JD, Anderson D, Asmara H, Rehak R, Mehaffey WH, Hameed S, et al. Intermediate conductance calcium - activated potassium channels modulate summation of parallel fiber input in cerebellar Purkinje cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012 Feb 14; 109 (7): 2601-6.

11. Yazdi HH, Janahmadi M, Behzadi G. The role of small-conductance  $\text{Ca}^{2+}$ -activated  $\text{K}^{+}$  channels in the modulation of 4-aminopyridine-induced burst firing in rat cerebellar Purkinje cells. *Brain Res* 2007 Jul 2; 1156: 59-66.

12. Haghdost-Yazdi H, Janahmadi M, Behzadi G. Iberiotoxin-sensitive large conductance  $\text{Ca}^{2+}$  -dependent  $\text{K}^{+}$  (BK) channels regulate the spike configuration in the burst firing of cerebellar Purkinje neurons. *Brain Res* 2008 May 30; 1212: 1-8.

13. Wang X, Xiao A, Ichinose T, Yu SP. Effects of tetraethylammonium analogs on apoptosis and membrane currents in cultured cortical neurons. *J Pharmacol Exp Ther* 2000 Nov; 295 (2): 524-30.

14. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. 7th ed. San Diego, CA: Academic Press; 2013.

15. Baluchnejadmojarad T, Hassanshahi J, Roghani M, Mansouri M, Raoufi S. Protective effect of carvedilol in 6-hydroxydopamine hemi - parkinsonian rat model. *Journal of Basic and Clinical Pathophysiology* 2014; 2 (2): 29-34.

16. Ingberg E, Gudjonsdottir J, Theodorson E, Theodorsson A, Strom JO. Elevated body

swing test after focal cerebral ischemia in rodents: methodological considerations. *BMC Neurosci* 2015 Aug 5; 16: 50.

17. Mendritzki S, Schmidt S, Szczepan T, Zhu XR, Segelcke D, Lubbert H. Spinal cord pathology in alpha-synuclein transgenic mice. *Parkinsons Dis* 2010 Jul 8; 2010: 375462.

18. Duty S, Jenner P. Animal models of Parkinson's disease: a source of novel treatments and clues to the cause of the disease. *Br J Pharmacol* 2011 Oct; 164 (4): 1357-91.

19. Carvalho MM, Campos FL, Coimbra B, Pêgo JM, Rodrigues C, Lima R, et al. Behavioral characterization of the 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease and pharmacological rescuing of non-motor deficits. *Mol Neurodegener* 2013 Apr 26; 8: 14.

20. Franciosi S, Ryu JK, Choi HB, Radov L, Kim SU, McLarnon JG. Broad-spectrum effects of 4-aminopyridine to modulate amyloid beta1-42-induced cell signaling and functional responses in human microglia. *J Neurosci* 2006 Nov 8; 26 (45): 11652-64.

21. Hu D, Liu J, Keblesh J, Xiong H. Involvement of the 4-aminopyridine sensitive transient A-type  $\text{K}^{+}$  current in macrophage-induced neuronal injury. *Eur J Neurosci* 2010 Jan; 31 (2): 214-22.

22. Haghdost-Yazdi H, Faraji A, Fraidouni N, Movahedi M, Hadibeygi E, Vaezi F. Significant effects of 4-aminopyridine and tetraethylammonium in the treatment of 6-hydroxydopamine - induced Parkinson's disease. *Behav Brain Res* 2011 Sep 30; 223 (1): 70-4.

23. Hernández-Enríquez B, Arellano RO, Morán J. Role for ionic fluxes on cell death and apoptotic volume decrease in cultured cerebellar granule neurons. *Neuroscience* 2010 May 5; 167 (2): 298-311.